

Pakan buatan untuk kodok lembu (*Rana catesbiana*)



Daftar isi

Daftar isi..... i

Prakata ii

1 Ruang lingkup..... 1

2 Acuan normatif..... 1

3 Istilah dan definisi 1

4 Klasifikasi 2

5 Syarat mutu 2

6 Cara pengambilan contoh..... 2

7 Cara uji dan pengukuran 2

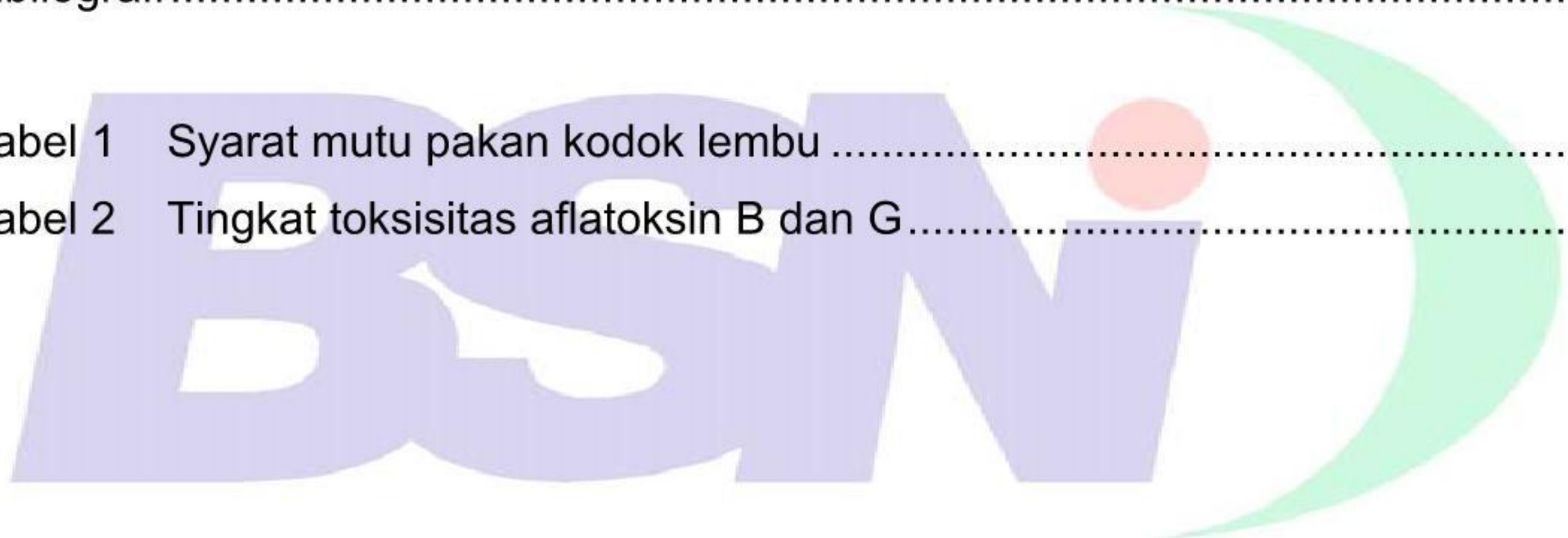
8 Syarat penandaan 10

9 Cara pengemasan 11

Bibliografi 12

Tabel 1 Syarat mutu pakan kodok lembu 2

Tabel 2 Tingkat toksisitas aflatoksin B dan G..... 9



Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) Pakan buatan untuk kodok lembu (*Rana catesbiana*) dirumuskan oleh Panitia Teknis 65-05 Produk Perikanan untuk dapat dipergunakan oleh pembenih, pembudidaya, pelaku usaha dan instansi yang memerlukan serta digunakan untuk pembinaan mutu dalam rangka sertifikasi.

SNI ini merupakan revisi dari SNI 01-4414-1997, dirumuskan sebagai upaya meningkatkan jaminan mutu (*quality assurance*), mengingat pakan buatan untuk kodok lembu tersebut banyak diperdagangkan serta sangat berpengaruh terhadap kegiatan budidaya sehingga diperlukan persyaratan teknis tertentu.

Perumusan standar ini dilakukan melalui rapat konsensus nasional pada tanggal 7 Oktober 2004 di Jakarta, yang dihadiri oleh unsur pemerintah, pembenih, pembudidaya, perguruan tinggi, lembaga penelitian dan instansi terkait lainnya serta telah memperhatikan:

- 1 Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 31 Tahun 2004 tentang Perikanan.
- 2 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. KEP. 01/MEN/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
- 3 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No. KEP. 05/MEN/2003 tentang Organisasi dan Tata Kerja Departemen Kelautan dan Perikanan.



Pakan buatan untuk kodok lembu (*Rana catesbiana*)

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan klasifikasi, syarat mutu, cara pengambilan contoh, cara uji dan pengukuran, syarat penandaan dan cara pengemasan pakan buatan untuk kodok lembu (*Rana catesbiana*).

2 Acuan normatif

SNI 01-2326-1991, *Standar metode pengambilan contoh produk perikanan.*

SNI 01-2332.2-2006, *Cara uji mikrobiologi-Bagian 2: Penentuan Salmonella pada produk perikanan.*

SNI 01-2354.1-2006, *Cara uji kimia-Bagian 1: Penentuan kadar abu pada produk perikanan.*

SNI 01-2354.2-2006, *Cara uji kimia-Bagian 2: Penentuan kadar air pada produk perikanan .*

SNI 01-2354.3-2006, *Cara uji kimia-Bagian 3: Penentuan kadar lemak total pada produk perikanan.*

SNI 01-2354.4-2006, *Cara uji kimia-Bagian 4: Penentuan kadar protein dengan metode total nitrogen pada produk perikanan.*

SNI 01-2891-1992, *Cara uji makanan dan minuman.*

SNI 01-4494-1998, *Penentuan tetrasiklin dan derivatnya dalam udang dan ikan secara kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).*

3 Istilah dan definisi

3.1

kodok lembu

jenis kodok yang biasa dibudidayakan dan dapat mencapai bobot lebih dari 500 gram per ekor

3.2

berudu

anak kodok yang masih memiliki ekor, hidup dalam air dengan bobot tubuh maksimal 12 gram per ekor

3.3

percil

anak kodok yang sudah tidak berekor, bentuk sudah sempurna, hidup dalam air dan di darat dengan bobot tubuh antara 12 gram – 20 gram per ekor

3.4

pakan buatan

berupa hasil campuran beberapa bahan baku dan bahan imbuhan pakan, sehingga mempunyai nilai gizi tertentu yang mampu mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan, pakan ini dibuat melalui proses pencetakan berbentuk butiran atau pelet disesuaikan dengan ukuran bukaan mulut kodok lembu, sifat fisik pakan ini mengapung, melayang atau tenggelam

4 Klasifikasi

Digolongkan menjadi 1 (satu) tingkatan mutu.

5 Syarat mutu

Persyaratan mutu pakan kodok lembu sesuai Tabel 1.

Tabel 1 Syarat mutu pakan kodok lembu

No.	Jenis Uji	Satuan (as feed)	Persyaratan		
			berudu	percil	dewasa/induk
1	Kadar air, maks	%	12	12	12
2	Kadar abu, maks	%	13	13	13
3	Kadar protein, min	%	35	35	35
4	Kadar lemak, min	%	5	5	5
5	Kadar serat kasar, maks	%	6	6	6
6	Non protein Nitrogen, maks	%	0,20	0,20	0,20
7	Diameter pakan	mm	< 2	2-3	4-10
8	<i>Floating rate</i> , min	%	80	80	80
9	Kestabilan dalam air, min	jam	1	1	1
10	Kandungan mikroba/toksin - Aflatoksin - <i>Salmonella</i>	ppb kol/g	<50 - neg	<50 - neg	<50 - neg
11	Kandungan antibiotik terlarang - Nitrofurantoin - Ronidazol - Dapson - Kloramfenikol - Kolikisin - Klorpromazin - Triklorfon - Dimetildazol - Metronidazol - <i>Aristolochia</i> spp	µg/kg	0	0	0

6 Cara pengambilan contoh

Harus sesuai dengan petunjuk yang ditetapkan oleh SNI 01-2326-1991, *Standar metode pengambilan contoh produk perikanan*.

7 Cara uji dan pengukuran

7.1 Cara uji kimia

7.1.1 Kadar air, sesuai SNI 01-2354.2-2006, *Cara uji kimia-Bagian 2: Penentuan kadar air pada produk perikanan*.

7.1.2 Kadar abu total, sesuai SNI 01-2354.1-2006, *Cara uji kimia-Bagian 1: Penentuan kadar abu pada produk perikanan*.

7.1.3 Kadar lemak total sesuai SNI 01-2354.3-2006, *Cara uji kimia-Bagian 3: Penentuan kadar lemak total pada produk perikanan.*

7.1.4 Kadar protein, sesuai SNI 01-2354.4-2006, *Cara uji kimia-Bagian 4: Penentuan kadar protein dengan metode total nitrogen pada produk perikanan.*

7.1.5 Kadar serat kasar, sesuai SNI 01-2891-1992, *Cara uji makanan dan minuman.*

7.1.6 Penghitungan non protein nitrogen dengan menggunakan metode pengukuran nitrogen bebas:

7.1.6.1 Prinsip

Senyawa nitrogen yang terdapat dalam contoh diuraikan oleh NaOH, kemudian amoniak yang dibebaskan diikat dengan asam borat dan dititar dengan larutan asam standar.

7.1.6.2 Peralatan

- alat penyulingan dan kelengkapannya;
- pemanas;
- neraca analitik.

7.1.6.3 Pereaksi

- larutan indikator: 10 ml hijau bromkresol 0,1 % dicampur dengan 2 ml merah metil 0,1 % dalam alkohol 95 %.
- larutan asam borat indikator: 500 ml asam borat 2 % dicampur dengan 5 ml larutan indikator.
- larutan asam klorida, HCl 0,1 N.
- larutan natrium hidroksida, NaOH 30 %: larutkan natrium hidroksida ke dalam 350 ml air, simpan dalam botol bertutup karet.

7.1.6.4 Cara kerja

- timbang seksama 5 gram cuplikan, masukkan ke dalam labu didih 250 ml, tambahkan 100 ml air suling dan 10 ml NaOH 30 %, hubungkan dengan alat penyuling.
- sulingkan selama lebih kurang 20 menit, sebagai penampung gunakan 10 ml larutan asam borat 2 % yang telah dicampur indikator.
- bilas ujung pendingin dengan air suling.
- titar dengan larutan HCl 0,1 N.
- kerjakan penetapan blanko dengan perhitungan:

$$\text{Nitrogen bebas} = \frac{(b - c) \times d \times 0,014}{a} \times 100 \%$$

dengan pengertian:

- adalah bobot cuplikan (g);
- adalah volume HCl 0,1 N yang dipergunakan peniteran contoh (ml);
- adalah volume HCl 0,1 N yang dipergunakan peniteran blanko (ml);
- adalah normalitas HCl.

7.1.7 Kadar antibiotika (tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin dan doksisisiklin) dan turunannya sesuai SNI 01-4494-1998, *Penentuan tetrasiklin dan derivatnya dalam udang dan ikan secara kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC).*

7.1.8 Penetapan kadar residu antibiotika khloramfenikol dengan menggunakan metoda kromatografi cair kinerja tinggi atau kromatografi gas.

7.1.8.1 Metoda kromatografi cair kinerja tinggi

7.1.8.1.1 Prinsip

Kloramfenikol ditetapkan secara kromatografi cair kinerja tinggi setelah diekstraksi dari cuplikan.

7.1.8.1.2 Peralatan

- a) erlenmeyer bertutup asah 225 ml;
- b) corong pisah 125 ml;
- c) labu alas bulat 100 ml;
- d) rotary evaporator;
- e) labu tentukur 50 ml, 100 ml.

7.1.8.1.3 Pereaksi

- a) etil asetat;
- b) petroleum eter;
- c) asetonitril;
- d) natrium asetat;
- e) asam asetat.

7.1.8.1.4 Cara kerja

7.1.8.1.4.1 Larutan uji

- a) timbang 25 gram contoh yang telah dihaluskan dan homogen, masukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan 50 ml etil asetat, tutup erlenmeyer dan kocok kuat selama 1 menit - 2 menit.
- b) saring ekstrak etil asetat menggunakan kertas saring. Pipet 25 ml filtrat, masukkan ke dalam labu alas bulat, dan pekatkan dengan rotary evaporator sampai lebih kurang 3 ml.
- c) tuang ekstrak pekat secara kuantitatif ke dalam corong pisah dengan bantuan 5 ml etil asetat, tambahkan 35 ml petroleum eter dan 3,0 ml air asetonitril (4:1) kocok.
- d) biarkan lapisan air terpisah (sentrifus jika terbentuk emulsi). Lewatkan lapisan air ke dalam kolom papat kecil yang telah diisi celite 545 setinggi 1,5 cm.
- e) tampung ekstrak air, saring dengan milipore 0,45 μ m dan suntikkan ke kromatografi cair kinerja tinggi.

7.1.8.1.4.2 Larutan baku

- a) timbang sejumlah lebih kurang 25 mg baku kloramfenikol, masukkan ke dalam labu 50 ml dan larutkan dalam pelarutan air setonitril (4:1) sampai tanda (larutan stok).
- b) pipet 1,0 ml larutan stok baku dan masukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, encerkan dengan pelarut sampai tanda (larutan intermediet).
- c) buat larutan baku seri dengan cara memipet larutan intermediet berturut-turut 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml dan 4,0 ml kemudian masukkan masing-masingnya ke dalam labu tentukur 50 ml dan encerkan dengan pelarut sampai tanda.

7.1.8.1.4.3 Cara penetapan

Suntikkan larutan uji dan larutan baku secara terpisah ke dalam kromatografi cair kinerja tinggi dengan kondisi sebagai berikut:

- a) kolom : RP 18,5 μm (diameter dalam 0,46 cm dan panjang 15 cm);
- b) fase gerak : air – asetronitril – dapar asetat (75:25:1);
dapar asetat = natrium asetat 1 M – asam asetat 1 M (1:1);
- c) kecepatan air : 0,7 ml/min;
- d) detector UV dengan panjang gelombang 276 nm;
- e) volume penyuntikan : 20 μl .

7.1.8.1.4.4 Perhitungan

Kadar residu kloramfenikol dalam contoh dihitung menggunakan persamaan garis $y = bx + a$.

7.1.8.2 Metoda kromatografi gas

7.1.8.2.1 Prinsip

Sampel diinkubasi dengan β -glukuronidase menjadi kloramfenikol bebas. Kloramfenikol diekstraksi dan dimurnikan, kemudian ditetapkan secara kromatografi gas.

7.1.8.2.2 Peralatan

- a) seperangkat alat kromatografi gas yang dilengkapi dengan detektor penangkap elektron (ECD Ni-63), kolom kapiler DB-1, panjang 30 meter, diameter dalam 0,254 mm dengan ketebalan lapis tipis 0,25 μm atau yang setara.
- b) kolom mini Baker 10 SPE C_{18} (Oktadesil) atau cartridge C_{18} atau yang setara.
- c) inkubator.
- d) alat vakum Manifold untuk membantu pencucian alat Cartridge C_{18} .
- e) homogenizer atau *ultra turrax*.
- f) sentrifus beserta tabung sentrifuga alas bulat 50 ml.

7.1.8.2.3 Pereaksi

- a) metanol, murni pereaksi.
- b) etil asetat, murni pereaksi.
- c) heksan, murni pereaksi.
- d) kloroform, murni pereaksi.
- e) air suling kemurnian tinggi, resistan spesifik 18 mega ohm/cm.
- f) larutan dapat mengandung masing-masing 0,1 M KH_2PO_4 dan Na_2HPO_4 , pH 6,8 + 0,1; pH diatur hingga 6,8 dengan penambahan pereaksi kering secukupnya.
- g) tipe LX β -glukuronidase, encerkan dengan larutan dapar (F) hingga 4.000 unit/ml, siapkan segera sebelum digunakan.
- h) setonitril, murni pereaksi.
- i) sikloheksan, murni pereaksi.
- j) natrium klorida, murni pereaksi, siapkan larutan 4 % dalam air suling dan simpan pada suhu ruang.
- k) sylon HTP atau campuran heksametildisilazan (HMDS), klorotrimetilsilan, piridin (3:1:9).

7.1.8.2.4 Baku pembanding

Kloramfenikol BPFI (Baku Pembanding Farmakope Indonesia) atau yang setara. Baku internal metakloramfenikol (USDA, FSIS, *Mid Western Lab. Standards Repository*).

7.1.8.2.5 Penyiapan larutan baku

- siapkan masing-masing larutan baku persediaan kloramfenikol dan metakloramfenikol 500 µg/ml, dengan menimbang seksama 50,0 mg baku dan dilarutkan serta diencerkan dengan metanol hingga 100,0 ml.
- siapkan masing-masing larutan baku intermediet 50 µg/ml, dengan memipet 10,0 ml masing-masing larutan baku persediaan yang diencerkan dengan metanol hingga 100,0 ml.
- siapkan masing-masing larutan baku kerja 100 ng/ml, dengan memindahkan 200 µl masing-masing larutan baku intermediet dan diencerkan masing-masing dengan metanol hingga 100,0 ml.

CATATAN 1 Seluruh larutan baku disimpan dalam wadah kaca amber tertutup rapat pada suhu 4 °C.

CATATAN 2 Larutan baku persediaan dan intermediet tahan 6 bulan dan larutan baku kerja tahan 1 bulan, jika disimpan dalam kondisi seperti diatas.

7.1.8.2.6 Cara kerja

7.1.8.2.6.1 Ekstraksi contoh

- timbang 10,0 gram contoh yang sebelumnya telah dihomogenkan ke dalam tabung sentrifugal 50 ml, pada masing-masing contoh ditambahkan 100 µl larutan baku internal metakloramfenikol (100 ng/ml dalam metanol, 1 ppb).
- siapkan 1 blanko contoh dan 3 blanko contoh yang diperkaya (di "spike") dianalisis dan akan dianalisis bersama dengan tiap set contoh. Tambahkan masing-masing 100 µl larutan baku internal. Ke dalam contoh pembanding untuk perolehan kembali (*recovery*) "spike" dengan 0,5 ppb (50 µl larutan baku kerja); 1,0 ppb (100 µl larutan baku kerja) dan 2,0 ppb (200 µl larutan baku kerja). Data yang diperoleh dari contoh spike akan digunakan untuk perhitungan.
- tambahkan 1,5 ml larutan dapar fosfat (pH 6,8 + 0,1) dan 200 µl larutan β-glukuronidase (800 unit) pada semua larutan dalam tabung blanko, blanko spike dan contoh. Homogenkan masing-masing dengan menggunakan *ultra turrax* selama 30 detik – 60 detik pada suhu ruang.
- inkubasikan seluruh tabung selama 90 menit pada suhu 30 °C. Setelah diinkubasi, contoh dapat disimpan dalam lemari es selama semalam (jika pekerjaan dihentikan, sebaiknya pada tahap ini).
- ambil dari lemari es dan biarkan hingga suhu ruang.
- tambahkan masing-masing 15 ml etil asetat, campur isi tabung menggunakan *vortex mixer* selama 30 detik untuk mengekstraksi kloramfenikol. Sentrifus pada 2000 rpm selama 2 menit.
- fase etil asetat (lapisan atas) menggunakan pipet pasteur pindahkan ke dalam tabung 50 ml yang bersih dan kering.
- ulangi ekstraksi masing-masing contoh (butir f - g) dan kumpulkan masing-masing ekstrak.
- uapkan masing-masing ekstrak etil asetat hingga kurang lebih 1 ml di atas penguap N-evap dibawah aliran gas nitrogen, menggunakan tangas pasir suhu kurang lebih 60 °C. Tambahkan 4 ml larutan natrium klorida 4% pada semua tabung dan masing-masing di vortex selama 5 detik – 10 detik.

- j) lanjutkan penguapan etil asetat di atas penguap hingga seluruh lapisan etil asetat habis dan akan meninggalkan sedikit residu berminyak.
- k) tambahkan masing-masing tabung dengan 5 ml heksan ke dalam 4 ml lapisan Larutan natrium klorida (j). Vortex selama 10 detik. Sentrifus pada 2000 rpm selama 1 menit. Pisahkan lapisan atas dan dibuang.
- l) ulangi butir k.

CATATAN Tahap butir m hingga p harus dilakukan dengan segera, secara berurutan jangan biarkan zat penjerap menjadi kering.

- m) siapkan kolom C_{18} untuk masing-masing contoh, blanko dan blanko spike dengan pencucian secara berurutan, masing-masing dengan 5 ml metanol, 5 ml kloroform, 5 ml metanol dan 10 ml air suling. Buang seluruh cairan cucian.
- n) pindahkan secara kuantitatif masing-masing ekstrak (l) menggunakan pipet pasteur kedalam masing-masing kolom. Buang eluat.
- o) cuci masing-masing tabung 2 kali tiap kali dengan 1 ml liter air suling, vortex dan pindahkan cucian kedalam kolom (n). Buang eluat.
- p) cuci masing-masing kolom C_{18} dengan 1 ml air suling diikuti dengan 2 ml *metanol oil* (20:80). Biarkan cairan pencuci ke luar sempurna melalui kolom. Buang eluat.
- q) elusi kloramfenikol dari masing-masing kolom C_{18} menggunakan 2 kali tiap kali dengan 1,5 ml asetonitril, kumpulkan eluat dalam tabung tertutup ulir 10 ml bersih dan kering.
- r) uapkan masing-masing eluat asetonitril hingga lebih kurang 0,5 ml (perhatian: jangan sampai kering) di atas penguap pasir suhu 60 °C dengan aliran gas nitrogen.
- s) masing-masing pindahkan secara kuantitatif ke dalam 1 ml. Cuci masing-masing tabung di vortex selama 5 detik dengan 0,5 ml asetonitril dan tambahkan cucian masing-masing ke dalam vial. Uapkan hingga kering dengan aliran gas nitrogen pada suhu 60 °C. Perhatian cegah terhadap lembab melalui tahap ini.
- t) untuk mengeringkan residu, tambahkan masing-masing dengan 200 µl Sylon HTP. Kemudian vial ditutup dan vortex selama 5 detik. Reaksikan pada suhu 60 °C – 70 °C di dalam tangas pasir selama 15 menit.
- u) uapkan kelebihan pereaksi di atas penguap N-Evap dengan aliran gas nitrogen hingga kurang lebih 10 µl. Perhatian kelebihan waktu pengeringan pada tahap ini dapat menghilangkan analit.
- v) rekonsitusi residu dalam 100 µl sikloheksan-heksan (60 – 40), vortex 5 detik.
- w) suntikkan sejumlah volume (µl) derivatisasi ke dalam alat kromatografi gas yang dilengkapi dengan detektor penangkap elektron atau kromatografi gas yang dilengkapi dengan detektor spektrometri massa untuk konfirmasi.

7.1.8.2.6.2 Kondisi dan pengaturan alat

- a) gas pembawa: helium, kecepatan 29 cm/detik.
- b) gas make up: argon/metan, 95/5, kecepatan aliran 50 ml/detik.
- c) suhu kolom awal: 80 °C dipertahankan selama 1 menit.
- d) program suhu: suhu diprogram pada 30 °C/menit hingga 260 °C/menit; dipertahankan selama 10 menit atau hingga isomer meta dan kloramfenikol terelusi. Kemudian diprogram pada 30 °C/menit hingga suhu 300 °C/menit; pertahankan selama 5 menit untuk memastikan seluruh contoh terelusi.
- e) suhu persuntikan: 280 °C.
- f) suhu detektor: 350 °C.
- g) pengaturan kepekaan: 2/8 atenuasi.
- h) retensi waktu diperkirakan: kloramfenikol 10 menit hingga 11 menit.
- i) metakloramfenikol 9,5 menit hingga 10,5 menit.
- j) respon diperkirakan: 50 % simpangan skala penuh untuk 0,20 ng kloramfenikol.

7.1.8.2.6.3 Perhitungan

- metakloramfenikol digunakan sebagai baku internal untuk menghitung kadar kloramfenikol. Dengan pengertian mengukur tinggi atau luas puncak masing-masing komponen dalam 0,5 ppb, 1,0 ppb dan 2,0 ppb contoh yang telah diproses dengan prosedur sama. Hitung perbandingan tinggi atau luas area puncak untuk kloramfenikol dengan dibagi tinggi atau luas area puncak metakloramfenikol.
- menggunakan kurva kalibrasi, kemudian nilai dihitung dengan contoh:

$$Y = mx + b$$

$$Y = \frac{\text{Tinggi atau luas area puncak kloramfenikol}}{\text{Tinggi atau luas area puncak metakloramfenikol}}$$

dengan pengertian:

- m adalah slope,
b adalah intersep,
x adalah kadar kloramfenikol dalam ppb.

Koefisien korelasi kurva baku > 0,9945.

7.2 Penentuan mikroba

7.2.1 Penentuan Salmonella sesuai SNI 01-2332.2-2006, *Cara uji mikrobiologi- Bagian 2: Penentuan Salmonella pada produk perikanan.*

7.2.2 Kandungan aflatoksin dengan menggunakan metode analisis aflatoksin ini layak untuk bahan-bahan seperti makanan kacang tanah, kelapa, dan kelapa hibrida. Metoda dan referensi alternatif prosedur sebaiknya mengacu pada metoda analisis aflatoksin sebagai berikut:

7.2.2.1 Bahan

- kloroform (grade bahan);
- dietil ether (grade bahan);
- kloroform/campuran methanol (95/5 vol/vol);
- celite, tanah diatom;
- kieselgel G (Merck);
- standar kualitatif.

7.2.2.2 Peralatan

- gelas tipis lapisan kromatografi, 20 cm x 20 cm;
- lampu UV, puncak emisi pada 365;
- botol bermulut lebar, 250 ml;
- pipet mikro;
- mesin pengocok.

7.2.2.3 Metoda

- timbang 10 ml bahan kedalam botol bermulut lebar dan campur dengan 10 ml air. (Jika bahan lemak yang digunakan, ekstrak soxhlet utama dengan ether petroleum akan lebih berguna). Tambahkan 100 ml kloroform, stopper dengan resistant kloroform bung dan kocok selama 30 menit. Saring ekstraknya dengan celite, ambil 20 ml filtrat dan buat sampai menjadi 25 ml (larutan a). Ambil 20 ml filtrat lainnya dan kentalkan sampai menjadi 5 ml (larutan b).
- siapkan tabung tipis (erlenmeyer) melalui pengocokan Kieselgel G (100 gram) dengan air (220 ml) selama 20 menit dan aplikasikan campurannya ke dalam tabung tipis dengan menggunakan peralatan yang layak sampai kedalaman 509 U. Biarkan selama 1 jam, kemudian keringkan pada 1000 °C. Spot 10 U dan 20 U dari larutan b, dan 5 U dan 10 U dari larutan a kedalam plate, bersama dengan standar kualitatif spot, didalam garis 2 cm dari dasar tabung tipis dan paling tidak 2 cm dari masing-masing sisi. Lakukan spot aplikasi dengan cahaya redup.
- tumbuhkan tabung tipis ke dalam dietil ether sampai ketinggian 12 cm. Biarkan kering di cahaya redup, kemudian tumbuhkan lagi tabung tipis ke dalam metanol kloroform (95/5, vol/vol) sampai ketinggian 10 cm dari garis dasar. Uji tabung tipis di ruang gelap, 30 cm dari sumber cahaya UV. Adanya spot biru fluorescent pada Rf 0,5 sampai 0,55 menunjukkan aflatoksin B (cek lagi bahwa standar spot juga berada didalam kisaran ini). Dengan adanya spot kedua pada Rf 0,45 sampai 5 menunjukkan aflatoksin G. Tingkatan toksisitas contoh kemudian dapat diklasifikasikan ke dalam aflatoksin B dan G sesuai Tabel 2.

Tabel 2 Tingkat toksisitas aflatoksin B dan G

Volume yang diterapkan (U l)	Konsentrasi (U g/kg) tanpa <i>fluorescent</i>	Aflatoksin dengan <i>fluorescent</i>	Tingkat toksisitas <i>fluorescent</i> yang diamati
5 U (larutan a)	< 1000	> 1000	Sangat tinggi
10 U (larutan a)	< 500	500 – 1000	Tinggi
10 U (larutan b)	< 100	100 – 500	Menengah
20 U (larutan b)	< 50	50 – 100	Rendah

7.3 Cara pengukuran diameter pakan

Diameter pakan ikan diukur dengan menggunakan alat mikrometer (milimeter).

7.4 Cara pengukuran *floating rate*

- ambil beaker glass ukuran 1000 ml dan isi air 500 ml;
- timbang pakan sebanyak 10 gram dengan kadar air 0 %, kemudian dimasukkan ke dalam backer glass dan amati selama 1 jam;
- pakan yang masih mengapung kemudian diambil dengan cara diserok menggunakan scope net halus;
- kemudian dijemur dan dikeringkan dalam oven sehingga kadar air 0 %, selanjutnya pakan ditimbang;
- hitung *floting rate* (FR) dengan rumus, sebagai berikut:

$$FR = \frac{\text{Berat pakan yang mengapung}}{\text{Berat pakan awal masuk dalam wadah}} \times 100 \%$$

7.5 Cara pengukuran kestabilan pakan dalam air

7.5.1 Prinsip

Kehilangan bobot pada perendaman dalam air dengan kondisi tertentu dianggap sebagai kadar kestabilan dalam air.

7.5.2 Peralatan

- keranjang kawat (*wire basket*), *mesh size* 1 mm, ukuran 6 cm x 6 cm x 6 cm;
- aerator kecepatan 2,5 liter/menit – 3 liter/menit;
- neraca;
- akuarium;
- oven.

7.5.3 Cara kerja

- keringkan keranjang kawat dalam oven pada suhu 60 °C hingga berat konstan.
- timbang 10 gram bahan contoh yang telah diketahui kadar air dan masukkan ke dalam keranjang kawat.
- rendam keranjang kawat ke dalam akuarium yang berisi air laut bersalinitas sesuai dengan media budidaya udang windu. Ketinggian air dalam akuarium 30 cm, ketinggian keranjang 5 cm dari dasar akuarium, berikan aerasi, dengan batu aerator diletakan pada dasar akuarium persis di bawah keranjang kawat.
- lakukan perendaman selama 2 jam.
- angkat keranjang kawat tersebut lalu keringkan pada suhu 60 °C, kemudian timbang hingga berat konstan dengan perhitungan:

$$\text{Kadar kestabilan dalam air} = \frac{b}{a} \times 100 \%$$

dengan pengertian:

- adalah berat contoh kering sebelum perendaman (g);
- adalah berat contoh kering setelah perendaman (g).

8 Syarat penandaan

Penandaan dalam kemasan menggunakan bahasa Indonesia. Dalam kemasan minimal mencantumkan:

- merk dagang;
- nama produsen;
- klasifikasi pakan;
- berat netto;
- jenis bahan yang digunakan;
- jenis bahan yang ditambahkan;
- kandungan nutrisi yang terdiri dari:
 - air, maks;
 - protein, min;
 - lemak, min;
 - serat kasar, maks;
 - abu, maks.
- cara penyimpanan;
- cara penggunaan;

- j) bentuk (*crumble*, remah, pelet) dan sifat-sifat fisik (tenggelam);
- k) kestabilan dalam air;
- l) tanggal kadaluarsa;
- m) kode produksi.

9 Cara pengemasan

Pakan dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, aman dalam penyimpanan dan pengangkutan.



Bibliografi

Principle of Fish Nutrition, Werner Steffens, 1989. Ellis Horwood Limited. John Wile & Sons. New York-Chichester-Brisbane-Toronto.

Nutrition in Tropical Aquaculture. Essentials of Fish Nutrition, Feeds, and Feeding of Tropical Aquatic Species. Edited by Oseni M. Millamena, Relicardo M. Coloso, and Felicitas P. Pascual. Aquaculture Departement. Souteast Asian Fisheries Development Center. Tigbauan, Iloilo, Philippines May 2002.

Fish Nutrition and Marine Culture. JICA Textbook The General Aquaculture Course. Edited by Watanabe. Departemen of Aquatic Biosciences Tokyo University of Fisheries.

Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No.: KEP.20/MEN/2003 tentang Klasifikasi Obat Ikan.

Metoda analisis aflatoksin, 1972. BD. Jones. Laporan No. G70, dan Institut Produk-produk Tropik, London.

Farmakope Indonesia 1995, *Baku Pembanding Farmakope Indonesia* , edisi 3.

Farmakope Indonesia 1972, *Baku Pembanding Farmakope Indonesia* , edisi 2.

SNI 02-2724-2002, *Pakan buatan untuk udang windu (Penaeus monodon).*

